



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

PEDRO HENRIQUE RODRIGUES PEIXOTO

**ANALISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL10* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREÓIDE.**

Brasília, 2018

PEDRO HENRIQUE RODRIGUES PEIXOTO

**ANALISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL10* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREÓIDE.**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Ceilândia, da Universidade de
Brasília, como requisito parcial para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Dr.^a Jamila Reis de Oliveira

Co-orientadora: Dr.^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Brasília, 2018

PEDRO HENRIQUE RODRIGUES PEIXOTO

**ANALISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL10* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREÓIDE.**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jamila Reis de Oliveira

(Universidade de Brasília - FCE)

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

(Universidade de Brasília - FCE)

Rafael Martins de Moraes

(Universidade de Brasília)

Lígia Canongia de Abreu Cardoso

(Centro Universitário Planalto do Distrito Federal - UNIPLAN)

Dedico este ao meu pai, José Peixoto Gonçalves, um homem que exemplifica o que é ser pai, e ao meu filho Arthur Souza Peixoto, principal força motriz, que me levou a chegar até esse ponto.

AGRADECIMENTOS

A minha família que me deu suporte e incentivo para continuar a lutar por esse sonho, minha mãe Sandra, meu irmão Mauricio e meu Pai José Peixoto, aos meus amigos de graduação, em especial aqueles que estiveram mais próximos a mim, Suzana Cristina, Eduardo, Jaqueline, Anielly, Tailine, Renato, Samara, Gabriel, Vinicius, Vitor Hugo, Vitor Botelho, Joa Nilson, Felipe Evangelista, Filipe Rhaony, Fernando, em especial a memória de José Augusto. A mãe do meu filho Estéfane Andriny, que esteve comigo a maior parte desse trajeto e juntos concebemos o maior presente do universo nosso filho Arthur. Agradeço em especial a minha Orientadora Dr.^a Jamila, e principalmente a minha co-orientadora, mãe, amiga, mestra Dr.^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva sem a qual nada disso seria possível.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Adenina

CDT – Carcinoma diferenciado de tiróide

dNTPs – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

G – Guanina

IC OR – Intervalo de Confiança para a *Odds Ratio*

SNP – *Single nucleotide polymorphism*

mL – Mililitro

mg – Miligrama

mM – Milimolar

mm – Milímetro

μl - Microlitro

OR – *Odds Ratio*

P – p-valor

PCR – Reação em cadeia da polimerase

χ^2 – qui-quadrado

XPB - Transcription-coupled nucleotide excision repair

XRCC1 - X-ray repair cross-complementing protein 1

XRCC3 - X-ray repair cross-complementing protein 3

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
<i>Câncer de Tireoide.....</i>	<i>12</i>
<i>Epidemiologia do Câncer de Tireoide</i>	<i>13</i>
<i>Tratamento do Câncer de Tireoide</i>	<i>15</i>
<i>Fatores genéticos.....</i>	<i>17</i>
JUSTIFICATIVA	19
OBJETIVOS	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
ARTIGO.....	26
<i>RESUMO</i>	<i>27</i>
<i>ABSTRACT.....</i>	<i>28</i>
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODO.....	31
2.1 Cálculo e descrição da amostra.....	31
2.2 Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão.....	31
2.3 Extração de DNA e genotipagem.....	32
2.5 Parâmetro inflamatório	33
2.6 Características clínicas dos indivíduos	34
2.7 Análise estatística	34
3. RESULTADOS	35
4. DISCUSSÃO.....	41
5. CONCLUSÃO	43
6. <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	<i>44</i>
ANEXOS	46
<i>Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa</i>	<i>46</i>
<i>Anexo 4: Dados clínicos dos prontuários dos pacientes.....</i>	<i>64</i>
<i>Anexo 5: Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)</i>	<i>65</i>

RESUMO

O câncer de tireóide é a neoplasia endócrina mais frequente em humanos. Esse tipo de câncer é mais comum em crianças e adolescentes, e sua incidência aumenta com a idade em adultos. Alterações genéticas têm papel decisivo no aparecimento de várias neoplasias humanas dentre elas os polimorfismos são modificações frequentes em mais de 1% da população. A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina de vasta ação com fortes propriedades imunossupressoras e é incisiva na regulação da resposta imune, principalmente por meio da inibição de mediadores anti-inflamatórios. A região promotora do gene *IL10* é polimórfica e se localiza no 1q31-32, tem três polimorfismos de nucleotídeo único, amplamente descritos na literatura; -1082 (G/A), -819 (C/T), e -592 (C/A). Dentre os polimorfismos o -1082(G/A) foi associado com carcinoma papilar de tireoide, porém os outros polimorfismos foram descritos para outros tipos de câncer. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi identificar a distribuição do polimorfismo na região promotora do gene *IL10* -819 (T/C), em participantes portadores de carcinoma da tireoide, submetidos a iodo terapia em uma amostra brasileira. Trata-se de um estudo descritivo do grupo caso, no qual foram obtidas amostras de sangue de 30 indivíduos de ambos os sexos, idade maior que 18 anos. A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os estudos de associação foram executados considerando-se um nível de significância de 5%. O projeto encontra-se aprovado pelo comitê de ética humana. Resultados: A frequência genotípica observada foi: alelo ancestral homozigoto T/T 5 (16,7%), heterozigoto C/T 14 (46,7%), já a prevalência homozigoto C/C mutante 11 (36,7%). Essas frequências podem variar dependendo da população e da patologia, como descrito por (C.Y Bai et al. 2016), estudou uma população chinesa acometida por carcinoma cervical, associando com o mesmo polimorfismo estudado, nesse estudo as frequências foram: heterozigoto C/T 76 (46,06%) igual ao percentualmente do nosso estudo, porém os genótipos ancestral T/T 44 (26,67%), e o homozigoto mutante C/C 45 (27,27%), divergem do presente estudo. Conclusão: Na amostra estudada o heterozigoto C/T é o mais prevalente, seguindo em conformidade com o estudo comparado, porém ainda fazem-se necessários estudos posteriores para o aumento do tamanho da amostra.

Palavras-chave: Câncer de Tireoide. Radioisótopos do Iodo. Interleucina-10. Polimorfismo Genético

ABSTRACT

Thyroid cancer is the most common human endocrine neoplasia. This type of cancer is more common in children and adolescents and its incidence increases by age in adults. Genetic alterations play a decisive role in the appearance of several human neoplasms among which polymorphisms are frequent changes in more than 1% of the population. Interleukin 10 (IL-10) is a broad-spectrum cytokine with strong immunosuppressive properties and it is incisive in the regulation of the immune response, mainly through the inhibition of anti-inflammatory mediators. The promoter region of the IL10 gene is polymorphic and it is found at 1q31-32. There are three single nucleotide polymorphisms, widely described in the literature: -1082 (G / A), -819 (C / T), and -592 (C / A). Among the polymorphisms, -1082 (G / A) was already associated with papillary thyroid carcinoma, but the other polymorphisms were described for other types of cancer. Therefore, the objective of this study was to identify the distribution of the polymorphism in the IL10-819 (T / C) gene in the promoter region in participants with thyroid carcinoma undergoing iodine therapy in a Brazilian sample. This is a descriptive study of the case group, in which blood samples of 30 individuals of both genders, older than 18 years old, were obtained. Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. The association studies were performed considering a level of significance of 5%. The project is approved by the human ethics committee. Results: The genotypic frequency observed was: ancestral allele homozygote T / T 5 (16.7%), heterozygote C / T 14 (46.7%), and homozygous C / C mutant prevalence 11 (36.7%). These frequencies may vary depending on the population and pathology, as described by (CY Bai et al., 2016), studied a Chinese population affected by cervical carcinoma, associated with the same polymorphism studied, in this study the frequencies were: heterozygote C / T 76 (46.06%) and the mutated homozygote C / C 45 (27.27%) differed from the present study. Conclusion: In the studied sample, the C / T heterozygote is the most prevalent, according to the comparative study, but further studies are necessary to increase the sample size.

Key-words: Thyroid Cancer; Radioisotopes of Iodine; Interleukin-10; Genetic Polymorphism

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuições genotípicas e alélicas dos portadores de CPT e controle.....	29
Tabela 2: Níveis séricos de IL-10 segundo o genótipo, nos diferentes grupos de estudo.....	31
Tabela 3: Estudo da correlação entre a dose administrada do radiofármaco e os níveis séricos da citocina.....	32
Tabela 4: Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	33
Tabela 5: Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Níveis séricos de IL-10 nos diferentes grupos de estudo.....	31
--	----

1. Introdução

Dentre as neoplasias humanas o câncer de tireóide é responsável por menos de 1%, ainda assim sendo a neoplasia endócrina mais frequente em humanos, sua prevalência em crianças e adolescentes, e aumenta sua incidência em adultos com o avançar da idade (INCA, 2016). São diversos os fatores que estão associados a possíveis causas de desenvolvimento de câncer de tireoide, tais como exposição à radiação ionizante (DE MELLO, 2018), Alterações na expressão de microRNAs fragmentos de DNA não mensageiros que se ligam a cadeia de DNA para suprimir a expressão genica associados com o consumo frequente de alguns alimentos ou substancias ricas em vitaminas A e E (SILVA, 2018), de forma geral os fatores ambientais tem influencia direta no desenvolvimento de neoplasias.

O fator genético vem sendo cada vez mais estudados em associações com o desenvolvimento de neoplasias, sabe-se que marcadores tumorais como envolvidos em sistemas de reparo do DNA, como reparo de excisão de bases - BER (XRCC1), reparo de excisão de nucleotídeos – NER (XPD) e recombinação homóloga – HR (XRCC3) estão associados à tumorigênese da tireoide (LUTZ, 2017), bem como mutações presentes em genes responsáveis pela regulação da resposta inflamatória.

A interleucina-10 é uma citocina com fortes propriedades imunossupressoras, sendo incisiva na regulação da resposta imune, principalmente por meio da inibição de mediadores pró-inflamatórios (SABAT; ROBERT et al. 2010). Foram descrito certo número de polimorfismos do promotor do gene IL-10, região promotora do gene IL-10 é polimórfica e se localiza no cromossomo 1q31-32, possuindo três polimorfismos de nucleotídeo único em -1082 (G/A), -819 (C/T), e -592 (C/A) (LIU et al. 2013).

Dentro os polimorfismos descritos acima, a mutação -1082(G/A) já foi associada com carcinoma papilar de tireoide (ÇIL, et al. 2014), porém os outros polimorfismos foram descritos na IL10 foram descritos para outros tipos de câncer.

2. Revisão bibliográfica

Câncer de Tireoide

Tireoide é uma glândula endócrina situada na região cervical anterior à laringe, anterolateralmente à traqueia e ao esôfago, sendo constituída de dois lóbulos laterais que são unidos por um istmo. Tem como função sintetizar dois principais hormônios controladores da taxa metabólica do corpo humano, triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), essa síntese se dá a partir do eixo Hipotalâmico Hipofisário onde o hipotálamo libera tireotrofina (TRH), estimulando a hipófise a produzir o hormônio estimulante da tireoide (TSH) e essa por sua vez sintetiza e libera os hormônios T3 e T4 (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005; TORTORA; NIELSEN, 2013).

Tal glândula é formada por estruturas esféricas microscópicas, denominadas folículos, sua estrutura é basicamente constituída por células foliculares, as quais podem variar seu formato devido influência do TSH, de cubicas baixas à escamosas, além de fazer com que essas células passem a secretar hormônios ativamente. Os folículos tireoidianos são responsáveis por armazenar uma substância denominada colóide, que é constituída em sua maioria por tireoglobulina. Em condições normais, onde os níveis de Iodo se encontram dentro dos parâmetros, a glicoproteína em questão possui importante papel na síntese dos hormônios T3 e T4 (TORTORA; NIELSEN, 2013).

Há considerável frequência de nódulos tireoidianos, que podem representar diversas doenças desta glândula, contudo tais nódulos geralmente são benignos. São relativamente raras as neoplasias nesses nódulos, em menos de 1% das neoplasias totais, o prognóstico varia de ruim a bom, se tratado de forma correta, há uma boa expectativa de vida ao paciente. No entanto, a evolução clínica incerta de determinados tipos de carcinoma, pode levar ao óbito em poucos meses (ROSÁRIO et al., 2013).

Os tumores da tireóide são habitualmente classificados de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde em epiteliais, não epiteliais, mistelâneas, metástases de outros tumores e lesões pseudotumorais, quase todos podendo ser benignos ou malignos (NAVA, 2018).

O diagnóstico do câncer na tireóide é muitas vezes acidental, geralmente como um nódulo na região cervical; porém, menos do que 5% dos nódulos na tireóide são cânceres, lesões benignas são a grande maioria das lesões nodulares da tireóide (95%). Raramente, o paciente é visto pela primeira vez em virtude da presença de metástases no pescoço, pulmão ou ossos (RODRIGUES, 2015).

Os dados de história sugestivos de malignidade são radioterapia prévia na região anterior da cabeça e/ou pescoço ou a existência de casos familiares de câncer de tireóide representam indicativo de risco. O diagnóstico começa com o exame físico de palpação da glândula, uma vez constatado algum nódulo são sugeridos alguns exames de imagem, e parâmetros bioquímicos porém, é através da aspiração do nódulo com uma agulha fina que se determina o tipo de carcinoma. Este procedimento utiliza uma agulha fina que é inserida no nódulo para retirar células ou fluidos do nódulo que serão analisados ao microscópio. Esse teste é muito preciso para identificar nódulos cancerosos ou "suspeitos" e muitas vezes pode identificar o tipo de câncer, (RODRIGUES, 2015).

Epidemiologia do Câncer de Tireoide

O câncer de tireóide é a neoplasia endócrina mais frequente em humanos. Esse tipo de câncer é mais comum em crianças e adolescentes, e sua incidência aumenta com a idade em adultos. O câncer de tireoide do tipo papilar cresce lentamente e muitas vezes se espalha para os gânglios linfáticos no pescoço. Atinge as mulheres duas vezes mais frequentemente que os homens, e a idade do paciente típico é de 30 a 50 anos. Se detectado enquanto o tumor é pequeno (menor que 1 cm) e confinado à glândula tireoide, a taxa de cura é muito alta, perto de 100%, em pacientes jovens (INCA, 2016).

O tipo folicular é o segundo mais comum e afeta as mulheres duas vezes mais frequentemente que os homens, sendo a idade do paciente típico entre 40 a 60 anos. Se for detectado enquanto o tumor é pequeno e confinado à tireoide, a taxa de cura total é alta, quase 95% em pacientes jovens sendo que a taxa de cura diminui ligeiramente em pessoas mais velhas (KUMAR et al., 2013).

O tipo medular é muito menos comum (cerca de 5% dos casos). Quando não se espalha para além da tireoide, os pacientes têm 90% de chance de sobreviver por 10 anos; chance de 70% quando se espalha para os gânglios linfáticos no pescoço; e chance de 20% quando se espalha para locais distantes (tais como o fígado, ossos ou cérebro). Este tipo de câncer de tireoide pode ocorrer repetidamente em membros de uma mesma família e requer uma avaliação cuidadosa para determinar se outros membros da família estão em risco (KUMAR et al., 2013).

Já o tipo anaplásico é a forma menos comum (cerca de 1 a 2% dos casos) e o mais agressivo. É comum retornar após o tratamento e as chances de sobreviver mais de 6 a 12 meses é muito baixa. Afeta mais homens do que mulheres e, em sua maioria, pessoas com mais de 65 anos, sendo muito raro em pacientes jovens, (KUMAR et al., 2013).

Em estudos do Instituto Nacional do Câncer para o ano de 2016 no Brasil, constata-se 6.960 novos casos de Câncer de Tireoide, sendo 1.090 desses novos casos para o sexo masculino e 5.870 para o sexo feminino, o que gera um risco de 1,08 casos a cada 100 mil homens e 5,70 casos a cada 100 mil mulheres, já a estimativa para o ano de 2018 e que haja um aumento de casos chegando 9.610 novos casos, impulsionados também pela melhoria do diagnóstico e busca de tratamento. Também de acordo com a estatística do INCA, essa neoplasia é cerca de duas vezes maior em mulheres do que em homens, explicado por fatores hormonais, (INCA, 2016, 2018).

No estudo de Dos Santos (2016) foi feito um levantamento epidemiológico a respeito da evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012 foi observado um total de 6.914 óbitos por carcinoma de tireoide durante o período estudado, sendo que 2.212 casos correspondem ao sexo

masculino e 4.702 ao sexo feminino. Notou-se ainda que o número de óbitos em mulheres com carcinoma de tireoide aumentou significativamente se comparado com anos anteriores, onde no ano de 2000 o coeficiente de mortalidade observado foi de 0,32 óbitos a cada 100 mil mulheres e no ano de 2012 houve aumento do mesmo coeficiente para 0,43 óbitos a cada 100 mil mulheres. De maneira geral, a mortalidade por câncer de tireoide aumentou, segundo o estudo.

Recidivas podem ser frequentes, apesar de bom prognóstico inicial, estima-se que 20% dos pacientes apresentarão recorrência na própria tireoide, ou em gânglios cervicais e de mediastino; 5 a 10% desenvolverão metástase em outros órgãos e tecidos, como pulmões, ossos e cérebro. Após o tratamento inicial, é necessário acompanhar os novos casos de câncer diferenciados de tireoide (CDT), para detectar possíveis recorrências, e assim possibilitar tomadas de decisões necessárias à mudança do curso da doença (CAETANO et al., 2016).

Tratamento do Câncer de Tireoide

O tratamento do câncer de tireoide varia dependendo do tipo de câncer e da possibilidade de metástase, as opções de tratamento incluem a cirurgia e a radioterapia. Na cirurgia remove-se parte ou, mais comumente, toda glândula tireoide, e nódulos linfáticos anormais. Alguns cirurgiões também removem os linfonodos próximos, mesmo se eles não estiverem visivelmente anormais. Após a cirurgia, poderá ser prescrito hormônio tireoideano para o resto da vida do paciente, visando substituir os hormônios não mais produzidos (CAETANO et al., 2016).

A terapia com iodo radioativo consiste em ingerir uma quantidade suficiente de iodo radioativo, que vai depender do diagnóstico e prognóstico, para destruir o tecido tireoidiano não removido pela cirurgia. O iodo radioativo também pode tratar o câncer de tireoide que se espalhou para os nódulos linfáticos e outras partes do corpo (GRAF, 2005).

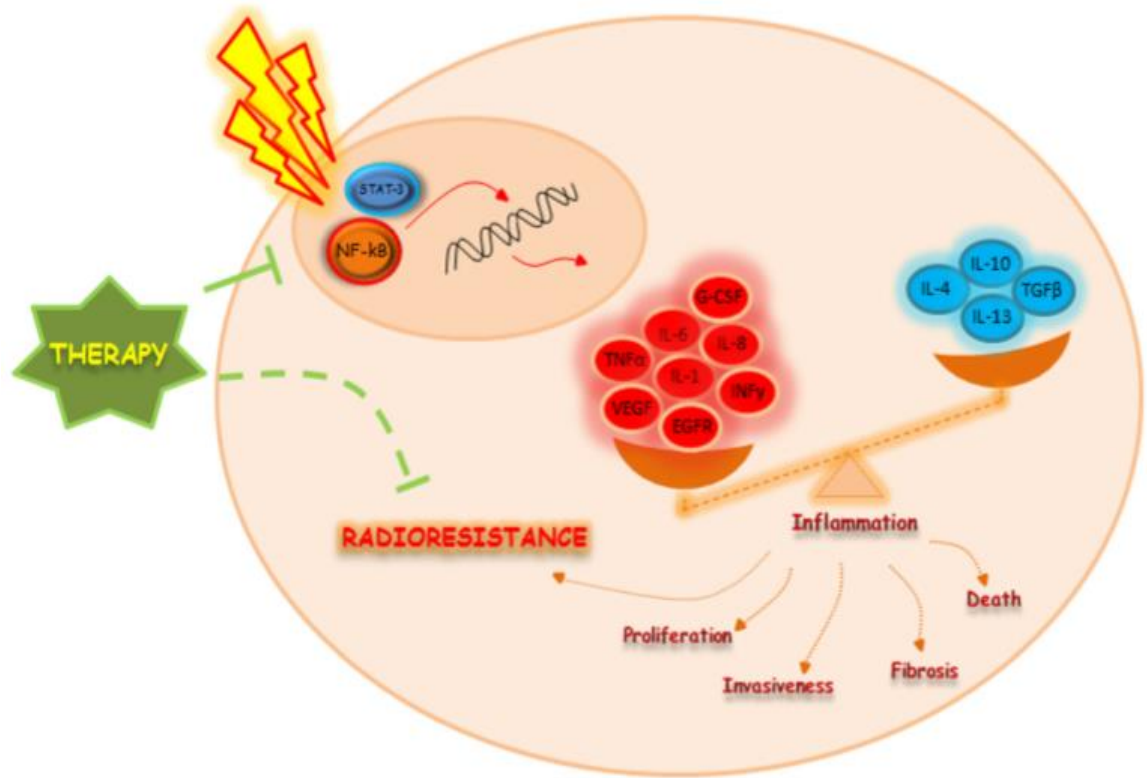
A glândula tireoide absorve praticamente todo o iodo presente no sangue. Quando uma dose de iodo radioativo, conhecida como o I-131, é administrada, pode

destruir a glândula tireoide e quaisquer outras células cancerígenas da tireoide. Este tratamento pode ser utilizado para a ablação de qualquer tecido de tireoide remanescente da cirurgia ou para tratar o câncer de tireoide que se disseminou para os gânglios linfáticos ou outros órgãos (CARVALHO; GRAF, 2005).

A iodoterapia é amplamente indicada para pacientes com câncer de tireoide papilar ou folicular (câncer diferenciado da tireoide), mas, não é utilizada para tratar carcinomas anaplásicos e medulares da tireoide, porque estes tipos de câncer as células envolvidas não captam iodo. A iodoterapia é mais eficaz em pacientes com níveis altos de hormônio estimulante da tireoide (TSH) no sangue. O TSH estimula o tecido da tireoide (e as células cancerosas) a absorver o iodo radioativo, se a tireoide foi removida, uma maneira de elevar os níveis de TSH é não administrar hormônios em comprimidos durante algumas semanas, o que causa uma diminuição do nível de hormônios da tireoide (uma condição conhecida como hipotireoidismo), que por sua vez faz com que a hipófise libere mais TSH (SAPIENZA et al., 2005), este hipotireoidismo intencional é temporário, mas muitas vezes provoca sintomas como cansaço, depressão, ganho de peso, constipação, dores musculares e concentração reduzida. Outra forma de aumentar os níveis do TSH antes da radioiodoterapia é administrar uma forma injetável de TSH, que pode fazer com que os hormônios da tireoide sejam retidos por um período de tempo necessário. Este medicamento é administrado durante 2 dias, fazendo-se a radioiodoterapia no 3º dia (ROBBINS; SCHLUMBERGER, 2005).

A célula quando exposta a radioterapia aumenta a síntese de citocinas pró-inflamatórias, o que gera um desequilíbrio entre as citocinas anti-inflamatórias que por fim acaba levando a célula a apoptose (DI MAGGIO et al., 2015).

Figura 1.



(DI MAGGIO et al., 2015)

Fatores genéticos

Alterações genéticas têm papel decisivo no aparecimento de várias neoplasias humanas, mutações e polimorfismos são duas alterações genéticas frequentes. Os polimorfismos genéticos são variações na sequência de DNA que podem criar ou extinguir sítios de reconhecimento de enzimas de restrição e parecem estar associados a apenas uma base (LODISH; ZIPURSKY, 2001).

Os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) são alterações de apenas um par de bases, chamado de mutação pontual. Com o Projeto Genoma Humano mais de quatro milhões de SNPs foram identificados. Esta mudança pode levar à troca de

aminoácido na proteína codificada pelo gene ou na maior ou menor taxa de expressão da proteína normal, cada variante da sequência genética é denominada alelo (VIRMOND et al. 2016).

A frequência de alelos mutantes para o polimorfismo genético ocorre em mais de 1% da população. Algumas dessas alterações ocorrerão em sequências não codificadoras do gene, que na maioria dos casos não terão efeito em suas funções; outras ocorrerão em sequências codificadoras, levando à produção de proteínas defeituosas. Deste modo, em alguns casos o polimorfismo genético pode aumentar a suscetibilidades à patologias (WAITS; STORFER, 2016). Segundo Sigurdson e colaboradores (2005), há aumento significativo de danos ao DNA em pacientes que possuem câncer de tireoide.

Os polimorfismos da IL10

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina de vasta ação com fortes propriedades imunossupressoras, sendo incisiva na regulação da resposta imune, principalmente por meio da inibição de mediadores pró-inflamatórios. Esta proteína é produzida principalmente por células T CD4 ativadas, monócitos/macrófagos ativados, células B estimuladas e mastócitos (SABAT; ROBERT et al. 2010). Foi descrito certo número de polimorfismos do promotor do gene IL-10, como a região promotora do gene IL-10 que é polimórfica e se localiza no cromossomo 1q31-32, tendo descritos três polimorfismos de nucleotídeo único em -1082 (G/A), -819 (C/T), e -592 (C/A) (LIU et al. 2013).

A IL-10 é reconhecida pela sua capacidade em inibir a ativação de células T, monócitos e macrófagos, uma citocina multifuncional com diversos efeitos sobre a maioria dos tipos de células hematopoiéticas. A principal função de rotina de IL-10 parece ser limitar e, finalmente, terminar respostas inflamatórias. Além destas atividades, a IL-10 regula o crescimento e / ou diferenciação de células B, células

NK, células T auxiliares e citotóxicas, mastócitos, granulócitos, células dendríticas, queratinócitos e células endoteliais (SABAT; ROBERT et al. 2010).

Deficiência de IL-10 sugere que essa citocina atua como um imunorregulador essencial e mutações em IL-10 estão também associadas à susceptibilidade aumentadas a infecção por HIV-1 e artrite reumatóide. Pacientes com AIDS (SUN, 2016), e linfoma de Burkitt (FUTAGBI, 2015), secretam grandes quantidades de IL-10, a síntese é inibida por IL-4 e pela própria IL-10. Extensas pesquisas têm indicado que polimorfismos funcionais que afetam a expressão do gene de IL-4, 6, 8, 10, assim como TNF- α estando fortemente associados com risco aumentado para câncer. IL-10 é uma citocina imunomoduladora que é frequentemente sobreexpressada em vários tipos de câncer.

O papel biológico da IL-10 no câncer é bastante complexo, no entanto, sua presença em metástases avançadas e a correlação positiva entre níveis séricos de IL-10 e os níveis de progressão da doença indica um papel crítico de IL-10 no microambiente tumoral (LEITE, DANIELLE PRADO, 2015).

Polimorfismos do tipo SNP podem ocorrer em todas as regiões genicas sendo promotora, codante ou nos introns, sendo que o primeiro tem influencia direta a quantidade expressa da proteína e o segundo na qualidade da proteína, alterações na região promotora levará a diminuição ou aumento da produção da proteína, enquanto mutação na região codante levará, a mudanças estruturais na proteína, muitas vezes levando a diminuição do seu potencial (LIU et al. 2013).

JUSTIFICATIVA

A prevalência de câncer de tireoide vem aumentando nas últimas décadas, sendo que as causas para tal aumento, ainda estão em discussão (GERMANO, 2016). Embora sua incidência também venha aumentando, a mortalidade é estável ou decrescente, pois avanços nos estudos de biologia molecular possibilitam

diagnósticos precisos do câncer de tireoide, além de informações importantes acerca do desenvolvimento de doenças tireoidianas (ANDRADE et al., 2016).

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi investigar a associação do polimorfismo da região promotora -819 T/C do gene IL-10 (rs1800871) com a ocorrência de câncer de tireoide e as características clínicas dos pacientes que foram submetidos ao tratamento com o radiofarmaco iodeto de sódio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, Juliana Pereira; KOWALSKI, Luiz Paulo. Pilocarpine used to treat xerostomia in patients submitted to radioactive iodine therapy: a pilot study. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 76, n. 5, p. 659-662, 2010.

ALVES, Gabriel Sérgio Costa. Identificação e análise de polimorfismos na região promotora do gene DREB2A em vários genótipos do gênero Coffea. 2011.

ANDRADE, Luis Jesuino O. et al . Protein molecular modeling of genetic markers for thyroid cancer. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro , v. 52, n. 5, p. 324-337, Oct. 2016.

CARVALHO, Gisah A. de; GRAF, Hans. Carcinoma indiferenciado de tireóide. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, p. 719-724, 2005.

ÇIL, Esra et al. Interleukin-10-1082 gene polymorphism is associated with papillary thyroid cancer. **Molecular biology reports**, v. 41, n. 5, p. 3091-3097, 2014.

CAMBOIM, Denise Cruz et al. Carcinoma papilífero da tireoide associado à tireoidite de Hashimoto: frequência e aspectos histopatológicos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 1, p. 75-82, 2009.

CORDEIRO, ANÓI CASTRO; STABENOW, ELAINE. Câncer de cabeça e pescoço. **Carvalho, VA et al. Temas em psico-oncologia**, p. 82-91, 2008.

DAL PIZZOL, Alexandre César et al. Carcinoma anaplásico de tireóide: experiência do Hospital Erasto Gaertner. **Rev. bras. cir. cabeça pescoço**, v. 38, n. 3, p. 145-148, 2009.

DANTAS, E. L. R. et al. Genética do câncer hereditário. **Rev Bras Cancerol**, v. 55, n. 3, p. 263-9, 2009.

DE MELLO SOUZA, Marina Santiago; DOVALES, Ana Cristina Murta; VEIGA, Lene Holanda Sadler. Probabilidade de Causalidade para Câncer Radioinduzido e seu

Uso em Demandas Compensatórias no Brasil. **Brazilian Journal of Radiation Sciences**, v. 6, n. 3, 2018.

DOS SANTOS, Lívia Maria Silva. Evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012. **Brazilian Journal of Clinical Analysis**, v. 48, n. 2, p. 133-7, 2016.

FERREIRA, Rute et al. Carcinoma da tiroide: incidental e não incidental. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 11, n. 2, p. 171-174, 2016.

FONSECA, Fabricio Lopes da; LUNARDELLI, Patrícia; MATAYOSHI, Suzana. Lacrimal drainage system obstruction associated to radioactive iodine therapy for thyroid carcinoma. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v. 75, n. 2, p. 97-100, 2012.

FUTAGBI, Godfred et al. High levels of IL-10 and CD4+ CD25hi+ Treg cells in endemic Burkitt's lymphoma patients. **Biomedicines**, v. 3, n. 3, p. 224-236, 2015.

GAO, Jie et al. Association of interleukin-10 polymorphisms (rs1800872, rs1800871, and rs1800896) with predisposition to IgA nephropathy in a Chinese Han population: a case-control study. **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 42, n. 1, p. 89-98, 2017.

GERMANO, Carla Maria Ramos et al . Possíveis novos determinantes da qualidade de vida de pacientes com câncer de tireoide tratado: um estudo qualitativo. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro , v. 21, n. 8, p. 2451-2462, Aug. 2016 .

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA, 2016

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Glândulas endócrinas. **Histologia Básica Texto e Atlas**, p. 11-4, 2013.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins patologia básica**. Elsevier Brasil, 2013.

LIU, Ping et al. IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e69547, 2013.

LODISH, Harvey; ZIPURSKY, S. Lawrence. Molecular cell biology. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 29, p. 126-133, 2001.

LUTZ, Bruna Schwengber. **Análise da expressão dos genes de reparo do DNA no carcinoma papilar da tireoide**. 2017. Tese de Doutorado.

MORAES, Rafaela Enely Coelho. ATUALIZAÇÃO EM CARCINOMA FOLICULAR DE TIREOIDE. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 3, n. 4, p. 56-70, 2016.

NAVA, Carla Fernanda et al. Impacto da mudança dos critérios de estadiamento do TNM na predição de doença persistente em uma coorte de câncer diferenciado de tireoide. **Archives of endocrinology and metabolism. Supplement. São Paulo**, 2018.

OLIVEIRA, Alcinéa Cristina Ferreira de; MOREIRA, Marléa Chagas. A enfermagem em radioiodoterapia: enfoque nas necessidades de ajuda dos clientes. **Rev. enferm. UERJ**, v. 17, n. 4, p. 527-532, 2009.

RAMOS GERMANO, Carla Maria et al. Possíveis novos determinantes da qualidade de vida de pacientes com câncer de tireoide tratado: um estudo qualitativo. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, n. 8, 2016.

RODRIGUES, Homero Gustavo Correia; PONTES, Alana Abrantes Nogueira de; ADAN, Luís Fernando. Doença nodular da tireoide: dificuldades e perspectivas no diagnóstico pré-operatório. **Rev Bras Med**, v. 72, n. 1/2, 2015.

RODRIGUES, Gustavo da Silva et al. Association between paracoccidioidomycosis and cancer. **Jornal Brasileiro De Pneumologia**, v. 36, n. 3, p. 356-362, 2010.

ROSÁRIO, Pedro Wesley et al. Nódulo tireoidiano e câncer diferenciado de tireoide: atualização do consenso brasileiro. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia. São Paulo. Vol. 57, n. 4 (jul. 2013), p. 240-264**, 2013.

SABAT, Robert et al. Biology of interleukin-10. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 21, n. 5, p. 331-344, 2010.

SANTOS, Cláudia Sofia dos Santos Fangueiro. Tiróide e paratiróide-Diagnóstico laboratorial. 2011.

SANTOS, Flávia Marques et al. **Injeção percutânea de etanol no tratamento de nódulos tireoidianos sólidos e mistos: um protocolo baseado em novas metas**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará.

SIGURDSON, Alice J. et al. DNA damage among thyroid cancer and multiple cancer cases, controls, and long-lived individuals. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 586, n. 2, p. 173-188, 2005

SILVA, Lara Clarisse de Lima. **Associação entre os hábitos alimentares e as concentrações séricas das vitaminas A e E com os preditores de prognóstico histopatológico do carcinoma papilífero da tireoide**. 2018. Dissertação de Mestrado. Brasil.

SUN, Jia et al. Plasma IL-6/IL-10 ratio and IL-8, LDH, and HBDH level predict the severity and the risk of death in AIDS patients with Pneumocystis pneumonia. **Journal of immunology research**, v. 2016, 2016

TORTORA, Gerard J.; NIELSEN, Mark T. **Princípios de Anatomia Humana** . Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000

VIANNA, Débora Modelli et al. The histological rarity of thyroid cancer. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 78, n. 4, p. 48-51, 2012.

VIRMOND, Marina Barreiros et al. Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 37-47, 2016.

WAITS, Lisette P.; STORFER, Andrew. Basics of population genetics: quantifying neutral and adaptive genetic variation for landscape genetic studies. **Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications**, p. 35-57, 2016.

ZHANG, Ying-Min; MAO, Yi-Min; SUN, Yu-Xia. Genetic polymorphisms of IL-6 and IL-10 genes correlate with lung cancer in never-smoking Han population in China. **Int J Clin Exp Med**, v. 8, n. 1, p. 1051-1058, 2015.

ARTIGO

Título: ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL10* EM PACIENTES PORTADORES DE CÂNCER DE TIREÓIDE.

Autores: Pedro Henrique R. Peixoto ¹, Rafael M. de Moraes¹, Alaor B. Sobrinho², Renata de S. Freitas, Calliandra Maria de S. Silva¹, Silvana S. Funghetto¹, Jamila R. de Oliveira¹, ¹, Izabel Cristina R. da Silva¹

Afiliações:

1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil;
2. Imagens Médicas de Brasília (IMEB), Brasília, DF, Brazil;

***Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Email: belbiomedica@gmail.com

Endereço: Centro Metropolitano, conjunto A, lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-275

A ser publicado na revista *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine)*

RESUMO

INTRODUÇÃO: Dentre as neoplasias da glândula tireoide o Carcinoma Papilífero de Tireoide (CPT) é a mais comum. A inflamação é um importante constituinte no complexo tumoral, alguns marcadores moleculares têm contribuído na compreensão da biologia das neoplasias, em destaque alguns marcadores inflamatórios o que favorece o diagnóstico e tratamento. Dentre estes marcadores, a IL-10 é uma citocina relacionada com a resposta anti-inflamatória.

OBJETIVOS: Associar a presença do SNP *IL10* (-819), rs1800871 à susceptibilidade ao CPT, bem como comparar níveis séricos da citocina antes e sete dias após a Iodoterapia, juntamente com outras características clínicas dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODO: Trata-se de um estudo caso-controle, no qual foram obtidas amostras de sangue de 87 indivíduos (26 no grupo caso e 61 no grupo controle). A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-10 foram medidos por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). Testes para médias e estudos de associação foram executados considerando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS: Houve diferença estatística com relação a distribuição genotípica entre indivíduos caso e controle, e estes grupos não diferiram em relação às dosagens de citocina. Porém, os níveis de citocina diminuem significativamente após a Iodoterapia, sendo que os portadores do genótipo CC apresentaram maior produção da proteína, mas este aumento não estava correlacionado com a dose de radiofármaco administrada.

CONCLUSÃO: O polimorfismo *IL-10* (-819) está associado à susceptibilidade ao CPT, os níveis séricos da citocina diminuem com o tratamento da iodoterapia, e o genótipo ancestral se mostrou protetivo em relação ao CPT.

Palavras-Chave: Câncer de Tireoide. Radioisótopos do Iodo. Interleucina-10. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Among Thyroid gland neoplasms, Thyroid Papillary Carcinoma (TPC) is the most common. Inflammation is an important constituent in the tumor complex, some molecular markers have contributed to the understanding of the biology of neoplasias, highlighting some inflammatory markers which favors diagnosis and treatment. Among these markers, IL-10 is a cytokine related to the anti-inflammatory response of iodine. Interleukin-10.

OBJECTIVE: Associate the presence of SNP IL10 (-819), rs1800871 to TPC susceptibility, as well as to compare serum cytokine levels before and seven days after Iodo therapy, along with other clinical characteristics of the patients.

MATERIAL AND METHODS: It is a case-control study, in which blood samples were obtained from 87 individuals (26 in the case group and 61 in the control group). Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum IL-10 levels were measured by kit for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Tests for averages and association studies were performed considering a significance level of 5%.

RESULTS: There was statistical difference regarding the genotypic distribution between case and control subjects, and these groups did not differ in relation to the cytokine dosages. However, cytokine levels increased significantly after iodotherapy, whereas patients with the CC genotype showed higher protein production, but this increase was not correlated with the dose of radiopharmaceutical administered.

CONCLUSION: The *IL-10* (-819) polymorphism was associated with PCT susceptibility, but serum cytokine levels were decreased with iodine treatment, and the ancestral genotype is protective regarding the PCT.

Keywords: Thyroid Cancer. Radioisotopes of iodine. Interleukin-1 10. Genetic Polymorphism.

1. INTRODUÇÃO

O câncer de tireóide é a neoplasia endócrina mais frequente em humanos. Esse tipo de câncer é mais comum em crianças e adolescentes, e sua incidência aumenta com a idade em adultos. O câncer de tireoide do tipo papilar cresce lentamente e muitas vezes se espalha para os gânglios linfáticos no pescoço. Atinge as mulheres duas vezes mais frequentemente que os homens, e a idade do paciente típico é de 30 a 50 anos. Se detectado enquanto o tumor é pequeno (menor que 1 cm) e confinado à glândula tireoide, a taxa de cura é muito alta, perto de 100%, em pacientes jovens (INCA, 2016).

O tratamento varia dependendo do tipo de câncer e da possibilidade de metástase. As opções de tratamento incluem: cirurgia e iodoterapia. No procedimento cirúrgico é removido parte ou, mais comumente, toda a tireoide, e nódulos linfáticos anormais. Alguns cirurgiões também removem os linfonodos próximos, mesmo se eles não estiverem visivelmente anormais. Após a cirurgia, o paciente terá que tomar hormônio tireoideano de forma contínua para suprir sua ausência (CAETANO et al., 2016).

A iodoterapia baseia-se no fato da glândula tireoide absorver praticamente todo o iodo presente no sangue. Assim, quando uma dose suficiente de iodo radioativo, conhecida como o I-131, é administrada, essa pode destruir a glândula tireoide e quaisquer outras células tumorais, com pouco ou nenhum efeito colateral para o corpo. Este tratamento pode ser utilizado para a ablação de qualquer tecido de tireoide remanescente da cirurgia ou para tratar o câncer de tireoide que se disseminou para os gânglios linfáticos ou outros órgãos (CARVALHO; GRAF, 2005).

Alterações genéticas têm papel decisivo no aparecimento de várias neoplasias humanas, sendo os polimorfismos alterações genéticas frequentes.

Os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) são alterações de apenas um par de bases, chamado de mutação pontual. Com o Projeto Genoma Humano mais de quatro milhões de SNPs foram identificados. Esta mudança pode levar à troca de aminoácido na proteína codificada pelo gene ou na maior ou menor taxa de

expressão da proteína normal. Cada variante da sequência genética é denominada alelo (VIRMOND et al. 2016).

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina de vasta ação com fortes propriedades imunossupressoras, sendo incisiva na regulação da resposta imune, principalmente por meio da inibição de mediadores pró-inflamatórios. Esta proteína é produzida principalmente por células T CD4 ativadas, monócitos/macrófagos ativados, células B estimuladas e mastócitos (SABAT; ROBERT et al. 2010). Foi descrito certo número de polimorfismos do promotor do gene IL-10. A região promotora do gene IL-10 é polimórfica e se localiza em 1q31-32, tem três polimorfismos de nucleotídeo único em -1082 (G/A), -819 (C/T), e -592 (C/A) (LIU et al. 2013).

IL-10 é uma citocina imunomoduladora que é frequentemente está associada a regulação de vários tipos de câncer, bem como de doenças autoimunes e infecções virais como no caso do HIV-1. A deficiência de IL-10 sugere que essa citocina atua como um imunorregulador essencial e mutações em IL-10 estão também associadas à susceptibilidade aumentadas à infecção por HIV-1, bem como à artrite reumatóide. Pacientes com AIDS e linfoma de Burkitt secretam grandes quantidades de IL-10. A síntese da IL-10 é inibida pela IL-4 e pela própria IL-10 (DE MENEZES, 2017).

O papel biológico da IL-10 no câncer é bastante complexo, no entanto, sua presença em metástases avançadas e a correlação positiva entre níveis séricos de IL-10 e os níveis de progressão da doença indicam um papel crítico de IL-10 no microambiente tumoral (LEITE, 2015).

Dentre os polimorfismos descritos anteriormente para mutações no gene *IL-10* o descrito para a região -1082(G/A) já foi associado com carcinoma papilar de tireoide (ÇIL, et al. 2014),

Assim, o presente estudo objetivou associar a presença do polimorfismo *IL-10* -819 T/C (rs1800871) à susceptibilidade ao carcinoma papilífero de tireoide (CPT), bem como correlacionar os níveis séricos da citocina IL-10 com a iodoterapia e outras características clínicas.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 Cálculo e descrição da amostra

A amostra foi calculada estimando-se a prevalência de 1% de câncer de tireoide entre os tipos de câncer na população adulta, erro amostral de 5% e intervalo de confiança (IC) de 95%, em número de pacientes $n = 8450$, obtendo-se um número amostral de 12 participantes. Com a compensação de perdas, foi considerada uma amostra de 26 portadores de CPT.

O presente estudo trata-se de um estudo caso-controle, com base hospitalar, concluído em seis meses (junho a dezembro de 2017), tendo sido o grupo caso composto por 30 indivíduos (19 mulheres e 11 homens; média de idade 47,6 anos \pm 12,7 anos). O grupo controle foi formado por 61 participantes (48 mulheres e 13 homens, média de idade 45 anos \pm 7 anos), constituído por indivíduos saudáveis, voluntários, pareados, recrutados no departamento geral de pacientes ambulatoriais (OPD), sem descrição de alteração na glândula tireoide.

2.2 Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão

O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os indivíduos antes da coleta de informações e amostras. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional, possuindo o CAAE de nº 57382416.6.0000.0023, disponível no anexo 1.

A composição da amostra obedeceu os seguintes critérios de inclusão: para o grupo caso, ser paciente com diagnóstico de câncer de tireoide e que fossem ser submetidos à iodoterapia no serviço de Medicina Nuclear Imagens Médicas de Brasília (IMEB), de ambos os sexos e possuir idade maior que 18 anos. Para o grupo controle, não ser portador de câncer, não ter sido submetidos à iodoterapia,

ambos os sexos, maiores que 18 anos e não possuir grau de parentesco com os pacientes do grupo caso.

Participantes foram excluídos em ambos os grupos se possuísem idade inferior a 18 anos, se apresentassem diagnóstico de câncer da tireoide, porém não fossem eletivos a iodoterapia além dos que não aceitaram participar da pesquisa ou representantes legais que não consentiram em participar.

2.3 Extração de DNA e genotipagem

As amostras foram coletadas em sua totalidade por punção venosa para isolamento do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do PureLink® Genomic DNA Mini Kit da empresa Invitrogen (catálogo #K1820-02, lote #19339891). A concentração de DNA foi determinada através da corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL. Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia de PCR (*Polymorphism Polymerase Chain Reaction*) para estudo da distribuição dos SNPs. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar os polimorfismos foram respectivamente:

Senso 5'-TCATTCTATGTGCTGGAGATGG-3'

Antisenso 5'-TGGGGGAAGTGGGTAAGAGT-3'

Este par de oligonucleotídeos flanqueia a região promotora do gene IL-10, no qual ocorre uma troca do nucleotídeo T por C (rs1800871).

As condições de termociclagem foram: 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos a 59°C por 45 segundos e 72°C por 55 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 8 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o termociclador Life Express ThermalCycler TC-96/G/H(b) (LIU, 2013).

Em cada reação foram utilizados 4,0µL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/µL; 2,5µL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5µL de MgCl₂ 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 0,5µL de desoxirribonucleotídeo trifostato (dNTPs; 2,5mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 0,5µL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 5U/µL); 1,5µL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10µM, IDT technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25µL por reação.

O fragmento resultante dessa PCR é de 209 pb.

2.4 Digestão enzimática

O produto da PCR (fragmento, 209pb) foi digerido com a enzima *MaeIII* (Sigma Aldrich®). O alelo 1 (C) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 209 pb é clivado em dois de 125 pb e 84pb; o alelo 2 (T) não é clivado pela enzima, e assim, o polimorfismo foi dividido em genótipo de clivagem (CC), heterozigoto (CT) e genótipo de não clivagem (TT). Para montagem do sistema de digestão foram utilizados: 10,0 µL da PCR; 5µL de tampão 10x UB; 1 µL de enzima *MaeIII* (10U/µL), completando com água Milli-Q para um volume final de 50 µL por reação. O sistema foi mantido a 37°C por 3 horas.

Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio 0,1% em uma potência de 100W por 20 minutos.

2.5 Parâmetro inflamatório

Para quantificação da interleucina IL-10 no soro dos pacientes, a amostra de sangue foi coletada em tubos livres de endotoxina e a análise foi executada com o

uso do kit para ensaio imunoenzimático sanduíche da Life Technologies específico para IL-10 humano, Human IL-10 ELISA Kit (catálogo #KHC010, lote #74788401A) conforme instrução do fabricante. De maneira sucinta, a amostra foi adicionada a poços que possuem o anticorpo primário contra a proteína de interesse (antígeno) adsorvidos no fundo da placa, em seguida foi adicionado anticorpo específico contra o antígeno e marcado com uma enzima (HRP – Peroxidase de raiz-forte) que reage com substrato incolor, produzindo um produto colorido proporcional à quantidade de proteína de interesse da amostra e passível de quantificação em 450/550 nm, a amostra foi comparada a uma curva padrão com concentrações conhecidas. Valores superiores a 9,1 pg/mL são considerados valores séricos elevados. Estes níveis séricos foram mensurados uma única vez no grupo controle, e no grupo caso, na admissão ao tratamento com radiofármaco e sete dias após o tratamento.

2.6 Características clínicas dos indivíduos

Dados dos prontuários dos pacientes foram anotados conforme a ficha presente no ANEXO 1

2.7 Análise estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípicas e alélicas dos pacientes portadores do câncer papilífero da tireoide que foram submetidos a iodoterapia foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%. Também foram calculadas Odds ratio (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL,

USA). Para comparação de médias das dosagens da citocina, foi utilizada ANOVA ou teste t- de Student, ou a correlação de Pearson, observados os pressupostos de normalidade. Para a verificação das demais características clínicas e os genótipos, foi utilizada a estatística não paramétrica teste H de Kruskal-Wallis.

3. RESULTADOS

3.1 Frequência genotípica e alélica do polimorfismo *IL10* (-819 T/C) no estudo caso-controle.

As frequências genotípicas do polimorfismo *IL10* (-819 T/C) nos indivíduos sadios estavam em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ($P = 0,400$). A distribuição genotípica se diferenciou significativamente entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios ($P = 0,002$), sendo que o número de indivíduos com os genótipos T/T, C/T e C/C foram de 5, 14 e 11, respectivamente no grupo CPT e de 31, 23 e 7 no grupo controle. Além disso, a avaliação entre os alelos T e C foi analisada ($P < 0,001$; OR = 0,29; IC95% = 0,15 – 0,55). A presença do polimorfismo rs1800871 do gene *IL10* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuições genotípicas e alélicas dos portadores de CPT e controle (T/C).

		CPT		Controle		P	OR (IC)
		N	%	N	%		
IL10 rs1800871	T/T	5	16,7%	31	50,8%	0,002*	NA
	C/T	14	46,7%	23	37,7%		
	C/C	11	36,7%	7	11,5%		
T		24	40,0	85	75,9	<0,001*	0,29 (0,15-0,55)
C		36	60,0	37	33,0		

NA: Não se aplica; *P<0,05

3.2 Níveis séricos da IL-10, genotipagem e suas correlações com as características clínicas dos portadores de PCT submetidos à iodoterapia.

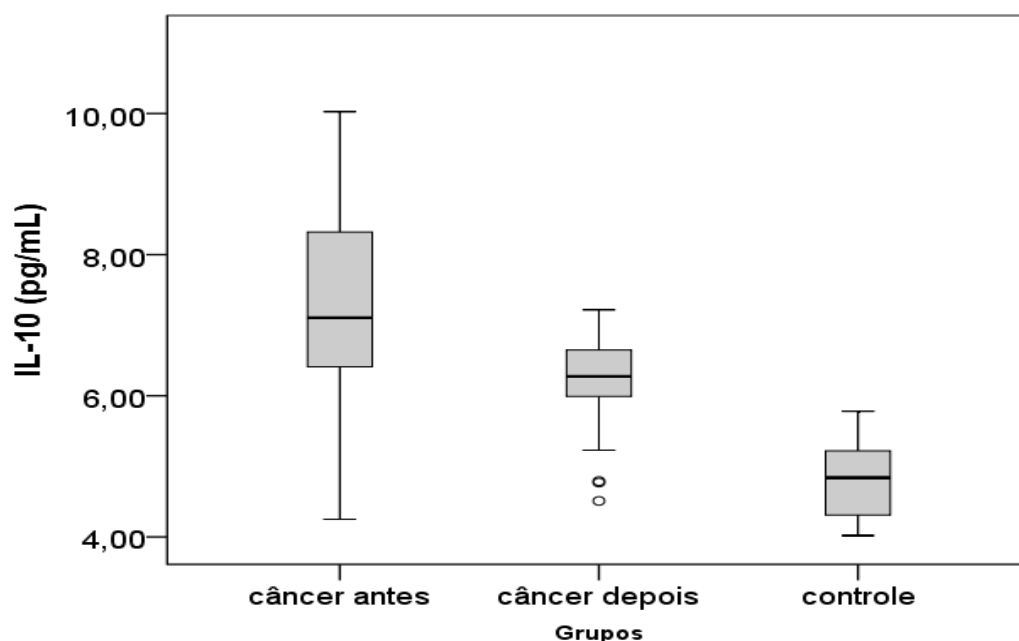
Os níveis séricos da IL-10 diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) entre os participantes do grupo controle e os pacientes portadores de CPT antes do tratamento com radiofármaco, demonstrando que o genótipo ancestral é fator de proteção para o surgimento do CPT, (OR 0,29) (Gráfico 1 e Tabela 2).

Tabela 2- Níveis séricos de IL-10 (T/C) segundo o genótipo, nos diferentes grupos de estudo.

IL10 rs1800871											
			T/T		C/T			C/C			
			Percentil		Percentil		Percentil		Percentil		P
			25	Mediana	75	25	Mediana	75	25	Mediana	
Câncer	Antes	IL-10 (pg/mL)	4,83	4,91a	5,32	6,77	6,99b	7,41	7,63	8,87c	<0,001
	Depois	IL-10 (pg/mL)	4,77	4,79a	5,23	6,02	6,14b	6,34	6,29	6,77c	<0,001
Controle		IL-10 (pg/mL)	4,28	4,48a	4,86	4,35	5,17b	5,24	5,38	5,53 c	<0,001

* $P < 0,05$ - Letras diferentes denotam diferença estatística

Gráfico 1 - Níveis séricos de IL-10 nos diferentes grupos de estudo



A análise de correlação da dose administrada e o nível sérico de IL-10 (Tabela 3), revelou independência entre essas variáveis, e somente foram correlacionados os níveis sérios de IL-10 dos portadores de CPT antes e após o tratamento com o radiofármaco, o que corrobora com a análise anterior. Assim, podemos afirmar que o aumento dos níveis séricos de IL-10 após o tratamento, não foi dose-dependente do radiofármaco.

Tabela 3- Estudo da correlação entre a dose administrada do radiofármaco e os níveis séricos da citocina

Correlações

		Dose administrada (mCi)	IL-10 (pg/mL) antes da iodoterapia	IL-10 (pg/mL) depois da iodoterapia
Dose administrada (mCi)	Correlação de Pearson	1	,189	,173
	Sig. (bilateral)		,317	,361
	N	30	30	30
IL-10 (pg/mL) antes da iodoterapia	Correlação de Pearson	,189	1	,921**
	Sig. (bilateral)	,317		,000
	N	30	30	30
IL-10 (pg/mL) depois da iodoterapia	Correlação de Pearson	,173	,921**	1
	Sig. (bilateral)	,361	,000	
	N	30	30	30

** . A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral).

Por fim, outras características clínicas dos pacientes foram relacionadas com o genótipo. Somente a dose administrada foi associada estatisticamente com a distribuição genotípica ($P < 0,05$), sendo que parece existir uma tendência a presença do alelo polimórfico T e as doses maiores administradas do radiofármaco (tabelas 4 e 5).

Tabela 4- Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo

		[Tireoglobulina] ng/mL			[TSH] uUI/mL			IMC		
		Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
IL10 rs1800871	T/T	,92	2,44	17,49	38,69	90,01	110,30	24,25	24,34	25,24
	C/T	,77	1,63	5,58	55,90	71,96	95,42	24,39	29,60	31,71
	C/C	3,00	6,66	31,99	7,46	70,83	121,00	22,57	25,42	28,13
P- valor		0,313			0,989			0,309		

Tabela 5- Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.

		Antitireoglobulina (UI/mL)				Sexo				Dose administrada (mCi)							
		<20		>20		F		M		50	100	150	200	250			
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
IL10 rs1800871	T/T	2	11,1%	1	25,0%	4	21,1%	1	9,1%	0	0,0%	1	11,1%	4	25,0%	0	0,0%
	C/T	8	44,4%	2	50,0%	8	42,1%	6	54,5%	1	100,0%	3	33,3%	9	56,3%	1	50,0%
	C/C	8	44,4%	1	25,0%	7	36,8%	4	36,4%	0	0,0%	5	55,6%	3	18,8%	1	50,0%
		0,674				0,661				0,359							

4. DISCUSSÃO

A proporção dos pacientes portadores de carcinoma papilífero quanto ao sexo foi de 19 mulheres: 11 homens; e média de idade 47,6 anos \pm 12,7 anos. Este perfil demográfico mostra-se coerente em relação à disposição de idade e sexo dos pacientes, o trabalho de Preres (2018), consistiu na genotipagem em 339 pacientes com nódulos tireoidianos dentre os quais 162 malignos sendo 35 do tipo CPT, onde a média de idade foi de 36,9 \pm 11,6 anos com incidência de 77% dos casos em mulheres (n=27).

O presente estudo demonstrou que presença polimorfismo *IL-10* (-819) está associada à susceptibilidade ao carcinoma papilífero da tireoide. Um ensaio executada por Gao, e colaboradores (2017), demonstrou que este polimorfismo também promove o aumento da expressão da citocina, sendo maior em pacientes com genótipo homozigoto mutante, corroborando nossos resultados. Quando comparado a outras doenças, como o Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) doença autoimune de associação coerente com a citocina IL-10, o trabalho de Moura (2017), interpela que não há associação entre o polimorfismo de mesma região e o LES.

Os níveis séricos da IL-10 já foram associados a diversos tipos de cânceres, segundo o trabalho Martins (2015), estão associados com o estagio da doença ou com um pior prognóstico em sarcoma ósseo, linfoma células B, câncer gástrico, câncer de cólon, linfoma de Hodgkin, câncer hepatocelular, melanoma, câncer de células renais, e câncer pancreático. Dos três SNPs frequentemente investigados no gene IL-10, na posição -1082 A/G, na posição -819 C/T e na posição -592 A/C, o SNP -1082 é o mais amplamente divulgado, pois seu alelo G foi associado com o aumento da produção da IL-10, o que também foi notado no presente estudo da região -819. Devido a natureza de ação anti-inflamatória, ou ainda mediadora das citocina inflamatórias, o aumento sérico da IL-10, pode estar relacionado a diminuição da resposta inflamatória propiciando um ambiente favorável a divisão celular desordenada.

Estudo desenvolvido por Silva e colaboradores (2015), observou que, não houve relação estatística com outros fatores, como idade, IMC ou dose administrada do radio fármaco para o presente estudo. A obesidade tem se mostrado fator de risco ao surgimento de diversas doenças, principalmente de cunho metabólico, o aumento da membrana celular dificulta a secreção de proteínas e citocinas, o estudo de DE Moura (2017), no qual os indivíduos obesos apresentaram o nível da citocina imunossupressora IL-10 menor quando comparado aos grupos sobrepeso e eutrófico. Contudo no presente estudo não observou-se associação entre o IMC e o polimorfismo.

No que diz respeito ao sexo, o estudo de Silva et al 2015 observou em relação às mulheres, uma associação entre polimorfismos da IL-10 com lesões cervicais e presença de HPV, apresentando altos índices de IL-10, quando comparadas às mulheres saudáveis e sem lesão uterina, em contra partida a amostra estudada não apresentou diferença estatística, entre pacientes portadores de CPT e pacientes saudáveis em relação ao sexo.

Como a IL-10 tem um importante papel na resposta autoimune, os indivíduos que apresentam o genótipo ancestral acabam por terem níveis de IL-10 mais baixos, o que remete ao trabalho de Çil (2014), que afirma que no câncer de tireoide as células produzem quantidades elevadas de IL-10, que desempenham papel importante em muitas características patológicas, além disso, foi demonstrado que a presença de IL-10 no ambiente de câncer de tireóide contribui para a sobrevivência e proliferação de células cancerígenas, uma vez que a resposta imune está suprimida.

Após o tratamento com o radiofarmaco, os niveis tendem a diminuir, uma vez que o mesmo, que é quase 100% absorvido pela tireoide, acaba por desempenhar o papel das celulas imunes, que é de eliminar possíveis celulas com desordem matabólica. Então fica evidente que para a manutenção da proliferação celular desordenada, as celulas neoplásicas tendem a expressar mais o gene *IL10*, que em pacientes com o polimorfismo na região promotora possuem naturalmente uma expressão do gene aumentada.

5. CONCLUSÃO

O polimorfismo *IL-10* -819 (T/C) está associado ao câncer papilífero da tireoide na população brasileira estudada. Foi possível identificar diminuição da citocina após o tratamento com o radiofármaco iodeto de sódio. A avaliação de fatores genéticos e a determinação de níveis circulantes de citocinas tais como a *IL-10*, podem ser uma metodologia promissora para um possível diagnóstico, na diferenciação entre condições benignas e malignas da tireoide, além de auxiliar no tratamento e redução nas taxas de mortalidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA, 2016
2. CAETANO, Rosângela et al . Custo-efetividade do uso da tomografia de emissão de pósitrons na detecção de recorrência do câncer diferenciado de tireoide. **Physis**, , v. 26, n. 1, p. 331-356, Mar. 2016.
3. CARVALHO, Gisah A. de; GRAF, Hans. Carcinoma indiferenciado de tireóide. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, p. 719-724, 2005.
4. GRAF, Hans. Carcinoma de tireóide pouco diferenciado: Novas considerações terapêuticas. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 49, n. 5, p. 711-718, 2005
5. LODISH, Harvey; ZIPURSKY, S. Lawrence. Molecular cell biology. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 29, p. 126-133, 2001.
6. VIRMOND, Marina Barreiros et al. Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 37-47, 2016
7. SABAT, Robert et al. Biology of interleukin-10. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 21, n. 5, p. 331-344, 2010.
8. LIU, Ping et al. IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e69547, 2013.
9. DE MENEZES, Silvio Augusto Fernandes et al. Analysis of IL-10 in HIV-1 patients with chronic periodontitis in northern Brazil. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, p. e17072-e17072, 2017.
10. LEITE, Vanessa Cristina de Araujo. O impacto das novas formas de diagnósticos inicial do câncer de tireoide na saúde pública. 2016.
11. ÇIL, Esra et al. Interleukin-10-1082 gene polymorphism is associated with papillary thyroid cancer. **Molecular biology reports**, v. 41, n. 5, p. 3091-3097, 2014.
12. PERES, Karina Colombero et al. Estudo do papel de TGF- β 1 no carcinoma diferenciado da tireoide. 2018.

13. GAO, Jie et al. Association of interleukin-10 polymorphisms (rs1800872, rs1800871, and rs1800896) with predisposition to IgA nephropathy in a Chinese Han population: a case-control study. **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 42, n. 1, p. 89-98, 2017.
14. MOURA, Vinícius Braceloti Vilhena de. Associação entre o polimorfismo na região promotora do gene IL10 (-819 T/C) e Lúpus Eritematoso Sistêmico em uma amostra brasileira. 2017.
15. MARTINS, Mariana Bonjorno et al. Estudo das interleucinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-2R, IL-6, IL-6R, IL-8 e IL-12) e Anti-Inflamatórias (IL-4, IL-4R e IL-10) no carcinoma diferenciado da tireoide. 2015.
16. SILVA, Alex Paulino da et al. Associação dos Genes IL-10 e TNF- α com a susceptibilidade às doenças cervicais. 2015.
17. DE MOURA, Ubiraci Silva et al. AVALIAR OS NÍVEIS INFLAMATÓRIOS DAS CITOCINAS TNF-ALFA, IL-10, IL-6, IL-1-BETA E IL-12 EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS, SOBREPESO E OBESOS. **SEFIC 2017**, 2017.

ANEXOS

Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO

Pesquisador: Rafael Martins de Moraes

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 57382416.6.0000.0023

Instituição Proponente: INSTITUTO DE MEDICINA NUCLEAR E ENDOCRINOLOGIA DE BRASILIA LTDA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.965.528

Apresentação do Projeto:

A tireoide é a maior glândula endócrina presente no corpo humano. Possui a função de sintetizar os hormônios tireoidianos (T3 e T4), que são extremamente importantes em diversas funções corporais. O câncer de tireoide (tireoide) é responsável por apenas <1% de todos os cânceres humanos, porém, é a neoplasia endócrina mais frequente. É subdividido em quatro principais tipos: papilar; folicular; medular e anaplásico. Dentro desse contexto, as alterações genéticas têm papel decisivo no aparecimento de várias neoplasias humanas. Mutações e polimorfismos são duas alterações genéticas frequentes. Deste modo, em alguns casos o polimorfismo genético pode aumentar a suscetibilidade às patologias e há um aumento significativo de danos ao DNA em pacientes que possuem câncer de tireoide.

METODOLOGIA: consiste na coleta de sangue em tubos contendo EDTA como anticoagulante. Serão recrutados 441 participantes da pesquisa no grupo Caso e 200 participantes da pesquisa no grupo Controle. O DNA genômico será extraído de leucócitos presentes no sangue utilizando o método Salting Out. Os exames de polimorfismo genético, que será realizado pelo método PCR qualitativo. Em seguida, a análise de polimorfismo se dará com o uso de enzimas de restrição, a

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

depende da região gênica a ser analisada. Serão analisados os polimorfismos dos genes P53, XRCC1, ERCC2/XPD, NOS3, TNFA, PDE, GP1BA, IFNG, PDC1D, SOD2, GST, NIS, CYP, PLA, VEGF, MNSOD, ILs e APOs, SOD3, BAX, BCL2 e TERT. A mensuração de TGF-Beta, TNF-Alfa e interleucinas será realizada pelo método ELISA, de acordo com as especificações do kit de alta sensibilidade R&D Systems Quantikine, nas amostras de sangue e saliva. A avaliação das proteínas p53, Bax, Bcl-2, TGF-, IL-10 e hTERT será realizada em todas as amostras de CECs em ambas as células neoplásicas e células do infiltrado inflamatório. Além do sangue, informações relacionadas ao prontuário do paciente do grupo caso também serão coletadas, tais como: tempo de tratamento, dose, outros exames complementares.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO: foram apresentados.

SOBRE AS FORMAS DE RECRUTAMENTO: para os participantes do grupo controle, o recrutamento se dará na sala de coleta de amostras no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia (FCE). O material biológico (sangue) dos participantes serão estocados na FCE da Universidade de Brasília (UnB), sob a guarda da pesquisadora Izabel Cristina Rodrigues da Silva e do pesquisador Rafael Martins de Moraes na extração do DNA das amostras, além das realizações dos exames para verificação dos polimorfismos genéticos.

METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS: será feita por meio das análises das frequências alélicas e genotípicas serão estimadas, usando-se o programa SPSS versão 20.0, por contagem direta, sendo essas expressas como porcentagem do número de alelos. Além disso, será aplicado o teste do qui-quadrado e o Odds Ratio (OR), de forma a comparar as distribuições das frequências e também fazer possíveis associações com os alelos, genótipos e haplótipos entre os 2 grupos avaliados (caso e controle).

Objetivo da Pesquisa:

O Objetivo Primário será "Determinar a prevalência de polimorfismos genéticos e dosar a concentração de proteínas séricas em pacientes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I131) e comparar com o grupo sadio no acompanhamento, tratamento, prognóstico e estadiamento da doença, em um estudo prospectivo e de caso controle".

E os Objetivos Secundários serão "Avaliar a influência entre o polimorfismo dos genes P53, XRCC1, ERCC2/XPD, NOS3, TNFA, PDE, GP1BA, IFNG, PDC1D, SOD2, GST, NIS, CYP, PLA, VEGF, MNSOD, ILs e APOs, SOD3, BAX, BCL2 e TERT, no tratamento e prognóstico em participantes com câncer de tireoide submetidos a dose terapêutica com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I131); Correlacionar a imunexpressão das proteínas MnsOD, Bax, Bcl-2 e hTERT nas lesões de tireoide relatadas no

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

laudo histopatológico; Comparar as concentrações plasmáticas de TNF- e Interleucinas dos participantes da pesquisa (grupo caso) com indivíduos sadios (grupo controle); Avaliar o background genético como acompanhamento no acompanhamento, tratamento, prognóstico e estadiamento da doença; Influência da iodoterapia (após o tratamento) nos genes citados anteriormente".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos foram descritos pelo pesquisador como sendo: A recomendação da sequência dos tubos é baseada na (CLSI H3-A6, Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures; Approved Standard, 6th ed) e deve ser respeitada, para que não ocorra contaminação por aditivos nos tubos subsequentes (contaminação cruzada dos aditivos), quando há necessidade da coleta para diversos analitos de um mesmo paciente. As medidas de segurança visam evitar injúrias tanto aos participantes como aos profissionais que farão o procedimento de coleta. Antes da coleta, o paciente será tranquilizado, agindo-se com honestidade, explicando passo-a-passo do procedimento, desde os equipamentos necessários até um possível desconforto no momento da coleta. Os critérios de avaliações de riscos e benefícios foram privados das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML - 2014): coleta e preparo da amostra biológica para Coleta de sangue venoso, descritos a seguir: formação de hematoma: No momento da antes e após a coleta, existem alguns riscos e possíveis complicações, que poderão vir acontecer. A formação de hematoma é a complicação mais comum em processos de punção venosa. É acometido devido à extravasamento do sangue para o tecido. Esse processo pode ocorrer durante ou após a punção. Quando acontece, o paciente pode sentir dor no local, e em alguns casos, a compressão de algum ramo nervoso. Punção arterial acidental: A punção acidental de uma artéria é outro risco. Porém, é um fato considerado raro, sabendo que a escolha do local e habilidade do profissional é preponderante para que isso seja evitado. A punção acidental arterial está associada principalmente à punções na veia basilica, pelo fato de estar proximamente localizada a(à) artéria braquial. Caso ocorra, é necessário realizar uma pressão na região afetada, por pelo menos 5 minutos, além de obstruir o local da punção com maior eficiência. Infecção: Embora raro, existe a possibilidade da punção venosa de gerar alguma infecção no paciente, por isso, não deve ser desprezada. Por isso, é importante que antes da punção, haja a assepsia no ponto de aplicação. O uso de algodão embebido em álcool etílico comercial, álcool iodado ou antissépticos à base de iodo, são recomendados para tal. Quando mais rápido for desde o momento da assepsia até o momento da punção na pele do paciente, menor será o risco de infecções. Um adesivo curativo deverá ser colocado após a punção, permanecendo

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

no paciente durante no mínimo 15 minutos. Lesão nervosa: Caso não ocorra sucesso na primeira tentativa de punção, a agulha deverá ser retirada, para que assim, uma segunda tentativa seja realizada. Isso evita que ocorra lesões em ramos nervosos próximos ao local da punção. Outra medida para que isso não ocorra, é orientar ao paciente, antes e durante a coleta, a não realizar movimentos bruscos. Dor: Geralmente, a dor gerada pela punção e retirada da agulha, é de fraca intensidade e suportável. Para que isso seja minimizado, acalmar e orientar o paciente antes e durante a coleta é adequado. Porém, medidas serão adotadas, visando também a segurança do profissional da saúde. Os equipamentos de proteção individual (EPIs) devem estar de acordo visando a proteção do profissional e do paciente. A principal forma de contaminação de agentes infecciosos é pelo contato. Todos as diretrizes para medidas de proteção e saúde dos trabalhadores devem estar de acordo com a Norma Regulamentadora Brasileira no 32 ou NR-32 (Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde), de 11 de novembro de 2005. Boas práticas individuais que pregam os Requisitos de Segurança no Laboratório Clínico também deverão ser tomadas, seguindo a norma ABNT NBR 14785:2001. O descarte de resíduos será feito de acordo com a RDC/Anvisa n. 306/2004.

E os Benefícios foram descritos pelos pesquisadores como sendo: Por se tratar de apenas uma coleta de sangue, através de punção de veia periferia, procedimento usual na prática clínica, os riscos referentes ao trabalho são mínimos. O anonimato dos pacientes é assegurado, pois o estudo tem enfoque nos dados e não nos pacientes individualmente. Os dados genéticos resultantes somente serão acessíveis aos pesquisadores do presente estudo e não serão dissociados dos indivíduos. Os benefícios do uso de dados genéticos humanos coletados no âmbito da pesquisa serão compartilhados entre a comunidade envolvida sob a forma de publicação de artigos científico sobre o assunto. Será oferecida a possibilidade de contato eletrônico (e-mail) a todos os participantes que desejarem, para que as possíveis descobertas de informações sejam repassadas, em forma de artigos científicos (modo como serão divulgados os resultados da presente pesquisa). Os benefícios deste estudo são maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide. Será oferecida a possibilidade de retorno das informações obtidas, bem como a descrição dos achados referentes aos polimorfismos genéticos de cada indivíduo analisado. Os participantes ou representantes legais terão acesso aos resultados mediante a sua solicitação à pesquisadora responsável, a qualquer momento, desde que as amostras já tenham sido processadas e analisadas. Esta solicitação poderá ser feita durante a assinatura do TCLE, por e-mail ou telefone, presentes no TCLE, e a pesquisadora agendará uma reunião para a entrega do resultado. Os resultados do

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

presente estudo ficarão disponíveis aos participantes e aos profissionais da empresa Imagens Médicas de Brasília (IMEB).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A Universidade de Brasília Faculdade de Ceilândia é Coparticipante da pesquisa.

Haverá a análise de prontuários dos participantes da pesquisa. Foram estabelecidos os critérios de inclusão e exclusão, assim como, os riscos e os benefícios. O orçamento foi apresentado e o cronograma está dentro do período de submissão ao CEP UniCEUB. Há, também, a descrição da metodologia de análise dos dados. O projeto apresenta mérito acadêmico e científico e representa importante contribuição para o entendimento das bases moleculares e citológicas do câncer da tireóide.

O pesquisador deve observar a regulamentação específica, Resolução no 340/04 do Conselho Nacional de Saúde que aprovar as Diretrizes para Análise Ética e Tramitação dos Projetos de Pesquisa da Área Temática Especial de Genética Humana:

quantos aos aspectos éticos, há que se garantir os seguintes elementos:

III.3 - As pesquisas envolvendo testes preditivos deverão ser precedidas, antes da coleta do material, de esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos.

III.4 - Aos sujeitos de pesquisa deve ser oferecida a opção de escolher entre serem informados ou não sobre resultados de seus exames.

III.5 - Os projetos de pesquisa deverão ser acompanhados de proposta de aconselhamento genético, quando for o caso.

III.6 - Aos sujeitos de pesquisa cabe autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais coletados no âmbito da pesquisa, após informação dos procedimentos definidos na Resolução sobre armazenamento de materiais biológicos.

IV.1 - As pesquisas da área de genética humana devem ser submetidas à apreciação do CEP e, quando for o caso, da CONEP como protocolos completos, de acordo com o capítulo VI da Resolução CNS No 196/96 (substituída pela Resolução CNS no 466/12), não sendo aceitos como emenda, adendo ou subestudo de protocolo de outra área, devendo ainda incluir:

- a) justificativa da pesquisa;
- b) como os genes/segmentos do DNA ou do RNA ou produtos gênicos em estudo se relacionam com eventual condição do sujeito da pesquisa;
- c) explicitação clara dos exames e testes que serão realizados e indicação dos genes/segmentos do DNA ou do RNA ou de produtos gênicos que serão estudados;
- d) justificativa para a escolha e tamanho da amostra, particularmente quando se tratar de

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



Continuação do Parecer: 1.965.528

- população ou grupo vulnerável e de culturas diferenciadas (grupos indígenas, por exemplo);
- e) formas de recrutamento dos sujeitos da pesquisa e de controles, quando for o caso;
- f) análise criteriosa dos riscos e benefícios atuais e potenciais para o indivíduo, o grupo e gerações futuras, quando couber;
- g) informações quanto ao uso, armazenamento ou outros destinos do material biológico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

*** TCLE:**

- Esse instrumento teve a sua formatação adequada conforme a solicitação do CEP UniCEUB: Como coparticipante, o CEP da UnB vai receber o projeto para análise, mas deve constar no TCLE os dados do CEP-UniCEUB, pois é o comitê que avalia o estudo submetido pela instituição proponente, INSTITUTO DE MEDICINA NUCLEAR E ENDOCRINOLOGIA DE BRASILIA LTDA.

- Foi acrescentada a informação da existência de grupo controle;

* Termo de concordância da instituição proponente - anexado a Plataforma Brasil;

* Folha de rosto com as devidas assinaturas do pesquisador principal, da instituição proponente e do patrocinador principal.

* Termo de guarda não contém as informações dos pesquisadores (nome, e-mail e telefone de contato).

* Termo de responsabilidade.

* Termo de responsabilidade e compromisso - apresentado através da Plataforma Brasil.

Recomendações:

O CEP-UniCEUB ressalta a necessidade de desenvolvimento da pesquisa, de acordo com o protocolo avaliado e aprovado, bem como, atenção às diretrizes éticas nacionais quanto aos incisos XI.1 e XI.2 da Resolução nº 466/12 CNS/MS concernentes às responsabilidades do pesquisador no desenvolvimento do projeto:

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador:

- c) desenvolver o projeto conforme delineado;
- d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;
- e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento;
- f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



Continuação do Parecer: 1.965.528

g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e

h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

- Resolução CNS n. 441/11, referente à análise ética de projetos de pesquisa que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores. Observação: O envio de relatórios deverá ocorrer pela Plataforma Brasil, por meio de notificação de evento. O modelo do relatório encontra-se disponível na página do UniCEUB

http://www.uniceub.br/instituicao/pesquisa/ins030_pesquisacomitebio.aspx, em Relatório de Finalização e Acompanhamento de Pesquisa.

Para entrar em contato com o CEP-UniCEUB utilize o e-mail cep.uniceub@uniceub.br.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa está apta a iniciar a coleta de dados, ressaltando que:

1) quando da ocorrência do procedimento de descarte do material biológico armazenado deverá ser observada a regulamentação pertinente, Resolução CNS n. 441/11, item 11.II:

- O descarte do material biológico humano armazenado em Biobanco pode ocorrer: a) pela manifesta vontade do sujeito da pesquisa; b) devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade; c) por iniciativa da instituição; e d) pela dissolução do Biobanco. III - Nas hipóteses previstas nas alíneas "c" e "d", são obrigatórias: a) a oferta formal do material armazenado a, no mínimo, duas instituições de pesquisa que possuam Biobanco e a apresentação comprovada da recusa; e b) a submissão da decisão institucional e da destinação do material biológico ao CEP, que as encaminhará para avaliação da CONEP.

2) No Termo de Guarda de Material Biológico inserir informações dos contatos dos pesquisadores (e-mail e telefone de contato), devendo uma via ficar com o participante (o representante legal), e, a outra, com o pesquisador responsável.

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo previamente avaliado, com parecer n. 1.949.153, tendo sido homologado na 2ª Reunião Ordinária do CEP-UniCEUB de 2017, em 17 de fevereiro do mesmo ano.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

Página 07 de 08

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_745986.pdf	19/01/2017 16:44:50		Aceito
Outros	Proponente.pdf	19/01/2017 16:43:59	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Outros	Coparticipante.pdf	19/01/2017 16:43:18	Rafael Martins de Moraes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	19/01/2017 16:42:41	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	GUARDA.pdf	19/01/2017 16:42:16	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Declaração de Pesquisadores	RESPONSABILIDADE_TERMOS.pdf	19/01/2017 16:40:47	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	19/01/2017 16:37:13	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	19/01/2017 16:33:48	Rafael Martins de Moraes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	19/01/2017 16:31:51	Rafael Martins de Moraes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 15 de Março de 2017

Assinado por:
Marília de Queiroz Dias Jacome
(Coordenador)

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Caso)



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA -
IMEB

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (GRUPO CASO)

INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO (^{131}I)

IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB

**Pesquisador(a) responsável: Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina
Rodrigues da Silva**

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O texto abaixo apresenta todas as informações necessárias sobre o que será feito. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não lhe causará prejuízo.

O nome deste documento que você está lendo é Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo.

Antes de assinar, faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo

- O objetivo específico deste estudo é avaliar a influência de alterações genéticas e concentrações de proteínas no sangue no tratamento de câncer de tireoide submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I).
- Você está sendo convidado a participar exatamente por possuir idade maior que 18 anos, de ambos os sexos, é portador de câncer da tireoide e está em tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I) na empresa Imagens Médicas de Brasília (IMEB).

Procedimentos do estudo

- Sua participação consiste em assinar o TCLE, coletar cerca de 5 mL de sangue venoso com material adequado, novo e descartável, **A sua**

participação se dará por meio de coleta de sangue total venoso (cerca de 5mL), realizada por um profissional devidamente treinado, com um tempo estimado de 10 minutos para cada visita (a primeira antes da administração do Radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I), a segunda no dia do pós-dose e a terceira quando o Senhor(a) realizar a etapa o controle da doença).

- Será avaliada sua parte genética que está possivelmente relacionada com as alterações para o câncer e problemas na tireoide. Os resultados serão devolvidos pela prof Izabel Cristina Rodrigues da Silva, biomédica e geneticista, professora da UnB. Se houver alterações que comprometam sua saúde, você será encaminhado ao serviço de atendimento hospitalar.
- Para uma melhor compreensão do estudo, anotaremos do seu prontuário os exames bioquímicos complementares, tais como anti-tireoglobulina, anti-tireoide peroxidase, hemograma, tireoglobulina, TSH, imagens do leito tireoidiano/PCI e outros.
- Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.
- A pesquisa será realizada na Empresa IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA – IMEB e as análises laboratoriais no laboratório de análises clínicas da FCE/UnB

Riscos e benefícios

- Este estudo possui riscos, **entre eles mínimas formações de hematomas ou dor, possíveis infecções e em casos mais raros lesão nervosa e punção acidental arterial**
- Medidas preventivas serão tomadas durante a coleta para minimizar qualquer risco ou incômodo. São elas: os materiais de coleta serão adequados ao procedimento, novos e descartáveis. A sala de coleta deverá ser única e exclusivamente para coleta, permanecendo no local somente o paciente e o flebotomista, com exceções para participantes que necessitam a presença de algum acompanhante, além da sala estar prontamente higienizada. Caso ocorra alguma contaminação, o local deverá ser imediatamente desinfetado, comunicando ao superior imediato do acidente ocorrido.
- Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo.
- Os resultados desta pesquisa serão compartilhados, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade, com a comunidade científica envolvida sob a forma de publicação de artigos científicos sobre o assunto, além de contribuir para maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo

- Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar.
- Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.
- Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

- Seus dados serão manuseados somente pelos pesquisadores e não será permitido o acesso a outras pessoas.
- Os dados e instrumentos utilizados (sangue coletado, exames de imagens, histopatológicos, laboratoriais e prontuário) ficarão guardados sob a responsabilidade dos pesquisadores **Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina Rodrigues da Silva** com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade, e arquivados por um período de 5 anos; após esse tempo serão destruídos.
- Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas. Entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se houver alguma consideração ou dúvida referente aos aspectos éticos da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEP/Uniceub, que aprovou esta pesquisa, pelo telefone 3966.1511 ou pelo e-mail cep.uniceub@uniceub.br. Também entre em contato para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo.

Eu, _____ RG _____, após receber a explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos nesta pesquisa concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Este Termo de Consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida ao senhor(a).

Brasília, ____ de _____ de _____.

Participante

Rafael Martins de Moraes, celular (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Endereço dos(as) responsável(eis) pela pesquisa:

Instituição: IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB

**Endereço: SHLS 716 conj. L, Centro Clínico Sul – TORRE II
/Complemento: SALA T224**

Bloco: /Nº:

Bairro: /CEP/Cidade: Brasília – DF (CEP: 70770-550)

Telefones p/contato: Celular: (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Endereço do(a) participante (a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Controle)



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA -
IMEB

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (GRUPO CONTROLE)

**INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO
PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE
SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO
(¹³¹I)**

**IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB**

**Pesquisador(a) responsável: Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina
Rodrigues da Silva**

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O texto abaixo apresenta todas as informações necessárias sobre o que será feito. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não lhe causará prejuízo.

O nome deste documento que você está lendo é Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo.

Antes de assinar, faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo

- O objetivo específico deste estudo é avaliar a influência de alterações genéticas e concentrações de proteínas no sangue no tratamento de câncer de tireoide submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I) e comparar com indivíduos que não serão/não foram submetidos ao tratamento.
- Você está sendo convidado a participar exatamente por possuir idade maior que 18 anos, de ambos os sexos, não possuir registro de câncer e não ser submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I), não aparentados dos pacientes do grupo caso.

Procedimentos do estudo

- Sua participação consiste em assinar o TCLE, coletar cerca de 5 mL de sangue venoso com material adequado, novo e descartável. **A sua participação se dará por meio de coleta de sangue total venoso (cerca de 5mL), realizada por um profissional devidamente treinado, com um tempo estimado de 10 minutos.**
- Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.
- Será avaliada sua parte genética que está possivelmente relacionada com as alterações para o câncer e problemas na tireoide. Os resultados serão devolvidos pela prof Izabel Cristina Rodrigues da Silva, biomédica e geneticista, professora da UnB. Se houver alterações que comprometam sua saúde, você será encaminhado ao serviço de atendimento hospitalar.
- A pesquisa será realizada na Empresa IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA
– IMEB e as análises laboratoriais no laboratório de análises clínicas da FCE/UnB

Riscos e benefícios

- Este estudo possui riscos, **entre eles mínimas formações de hematomas ou dor, possíveis infecções e em casos mais raros lesão nervosa e punção acidental arterial**
- Medidas preventivas serão tomadas durante a coleta para minimizar qualquer risco ou incômodo. São elas: os materiais de coleta serão adequados ao procedimento, novos e descartáveis. A sala de coleta deverá ser única e exclusivamente para coleta, permanecendo no local somente o paciente e o flebotomista, com exceções para participantes que necessitam a presença de algum acompanhante, além da sala estar prontamente higienizada. Caso ocorra alguma contaminação, o local deverá ser imediatamente desinfetado, comunicando ao superior imediato do acidente ocorrido.
- Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo.
- Com sua participação nesta pesquisa você poderá compartilhar entre a comunidade envolvida sob a forma de publicação de artigos científico sobre o assunto, além de contribuir para maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo

- Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar.
- Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.
- Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

- Seus dados serão manuseados somente pelos pesquisadores e não será permitido o acesso a outras pessoas.
- Os dados e instrumentos utilizados (sangue coletado, exames de imagens, histopatológicos, laboratoriais e prontuário) ficarão guardados sob a responsabilidade dos pesquisadores **Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina Rodrigues da Silva** com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade, e arquivados por um período de 5 anos; após esse tempo serão destruídos.
- Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas. Entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se houver alguma consideração ou dúvida referente aos aspectos éticos da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEP/Uniceub, que aprovou esta pesquisa, pelo telefone 3966.1511 ou pelo e-mail cep.uniceub@uniceub.br. Também entre em contato para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo.

Eu, _____ RG _____, após receber a explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos nesta pesquisa concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Este Termo de Consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida ao senhor(a).

Brasília, ____ de _____ de _____.

Participante

Rafael Martins de Moraes, celular (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Endereço do(a) participante (a) Domicílio: (rua, praça, conjunto): Bloco: /Nº: /Complemento: Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone: Ponto de referência:	
Endereço dos(as) responsável(eis) pela pesquisa: Instituição: IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB Endereço: SHLS 716 conj. L, Centro Clínico Sul – TORRE II Bloco: /Nº: /Complemento: SALA T224 Bairro: /CEP/Cidade: Brasília – DF (CEP: 70770-550) Telefones p/contato: Celular: (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033	

Anexo 4: Dados clínicos dos prontuários dos pacientes

Ficha para Dose Terapêutica com Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹ I)		
Nome:		
Sexo:		
Telefone para contato:		
e-mail:		
Idade:		
Sexo:	Masculino ()	Feminino ()
Indicação e CID:		
1) História Clínica		
Medicamentos em uso:		
Fumante:	Sim ()	Não ()
Pré-disposição:	Sim ()	Não ()
2) Exames Complementares		
Anti-tireoglobulina:		
Anti-tireoide peroxidase:		
B-HCG:		
Hemograma:		
Leito tireoidiano/PCI:		
Tireoglobulina:		
TSH:		
Outros:		
3) Histopatológico		
4) Ecografia		
5) Relacionado à Dose		
Dose sugerida de tratamento:		
Reposição hormonal:		
Uso do TSHrh		
Data da suspensão do hormônio:		
Início da dieta pobre em Iodo:		

Anexo 5: Normas da revista científica de escolha para publicação – *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)*

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original que possam ser replicados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir:

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos

deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- Artigos de periódicos (um só autor) Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- Artigos de periódicos (até seis autores) Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- Artigos de periódicos (mais de seis autores) Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- Artigo de periódico on-line Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.
- Livros no todo (dois autores) Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

- Capítulos ou parte de livro editado por outro autor Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.
- Parte de livro em meio eletrônico São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.
- Evento em meio eletrônico Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.
- Tese ou dissertação Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
- Citações no texto Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

- As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

- As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.
- O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.
- O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito.

Abreviações e nomes de medicamentos

- As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.
- As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

Contato com a secretaria do JBPML

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial Tel.: +55 (21) 3077-1400. E-mail: jbpml@sbpc.org.br

